

| | | | |
|---------|---|---------|---------|
| 氏名 | 淀谷 順一郎 | | |
| 授与した学位 | 博士 | | |
| 専攻分野の名称 | 薬学 | | |
| 学位授与番号 | 博乙第3986号 | | |
| 学位授与の日付 | 平成16年 9月30日 | | |
| 学位授与の要件 | 博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当) | | |
| 学位論文の題目 | マウス由来モノクローナル抗体を用いた混合凝集法によるABO式血液型検査法の開発 | | |
| 論文審査委員 | 教授 成松鎮雄 | 教授 山本重雄 | 教授 埴岡伸光 |

学位論文内容の要旨

ABO式血液型検査に従来から用いられてきたヒト由来ポリクローナル抗体(以下、HPAと略す)は、人に感作して製造されていたため、人道上の問題や感染症問題からWHOの勧告を受け、製造販売中止となった。

HPAに代わるものとして、臨床分野では、市販のモノクローナル抗体(以下MMAと略す)が繁用されている。しかし、法生物学分野においては、HPAを用いた従来の検査法にMMAを適用すると原因不明の非特異的凝集反応が生じ、正しい血液型判定ができないことが各種の検査法において報告されており、HPAを用いたこれまでの検査術式を見直し、MMAを用いることができる新たなABO式血液型検査法の開発が急務となっていた。

著者は、混合凝集法が他の検査法に比べて操作が簡単で、しかも高感度で抗原の局在箇所を顕微鏡下で観察できる等の利点があることに着目し、MMAの問題点の原因究明とMMAを使用可能とする検査法を確立するために、基礎的な検討を行い、従来法に改良を加えて、その応用を試みた。

混合凝集法において、市販のMMA抗A抗体、抗B抗体および抗H抗体を用いると、各指示血球が全て凝集し、全ての試料がAB型に判定される非特異的反応が生じた。この非特異的反応を抑制するため、試料やMMAの前処理を試みたところ、非特異的反応はMMAが試料と反応する段階で生じ、MMAに蛋白質とTween系界面活性剤を添加した調整抗体を用いることにより、正常な抗原抗体反応のみが進行する反応系が得られることを見出した。この添加剤効果は、市販されている5社のMMA製品全てに有効であった。さらに、法生物学分野における各種試料の前処理の工夫や試料固定板等の改良を行い、微量な法生物学的検査試料全般から血液型判定を可能とするMMA使用の混合凝集法を開発した。また、調整MMAを他の検査法である解離法に用いたところ、102例の血痕から血液型を正確に判定できた。

論文審査結果の要旨

血清学的検査法による ABO 式血液型検査に用いられてきたヒト由来ポリクローナル抗体は人道上の問題やエイズなどの感染症問題から製造販売が中止となった。その代わりに市販マウス由来モノクローナル抗体 (MMA と省略) を従来の検査法に適用すると原因不明の非特異的凝集反応が生じ正しい血液型判定ができない。著者は混合凝集法を用いて、MMA の問題点の原因究明と MMA の使用を可能とする検査法を確立するために、従来法に改良を加えると共に、その応用を試みた。混合凝集法においては、市販 MMA 抗 A 抗体、抗 B 抗体および抗 H 抗体を用いると、A 型、B 型および O 型の各指示血球が全て凝集し、全ての試料が AB 型に判定される非特異的反応が生じた。この非特異的反応を抑制するため試料や MMA の前処理を試みたところ、MMA にブロックエース (BA と省略) と Tween20 を添加することで非特異的反応が完全に抑制された。この抑制効果の原因を究明するため混合凝集法のどの操作手順で非特異的反応が生じるか検討した結果、試料と MMA との反応において非特異的反応の起こることが明らかになった。また、BA と Tween20 の添加効果は、試料表面をブロッキングして非特異的反応を抑制することではなく、MMA の反応性を正常にする効果であることも判明した。これらの実験結果から、非特異的反応が生じる原因は、MMA が IgM タイプの抗体であり、HPA は主に IgG タイプの抗体であるため、MMA は HPA よりも非特異的反応が生じやすいことに起因していると推定された。さらに法生物学分野における各種試料の前処理の工夫や試料固定板等の改良を行い、多様な微量試料から血液型判定を可能とする MMA 使用の混合凝集法を開発した。本法は従来法に比べて、指示血球の凝集が鮮明なため判定も容易で、検査時間も著しく短縮された。本研究で見出された調整抗体は、法生物学分野で汎用されている解離法においても有効であることが示された。これらの研究の経過及び考察を詳述した本論文は、学位論文として十分な内容を有していると判定した。